

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-103479

(43)Date of publication of application : 22.04.1997

51)Int.Cl.

A61L 25/00

A61K 47/42

A61L 27/00

21)Application number : 07-301898

(71)Applicant : GUNZE LTD

22)Date of filing : 13.10.1995

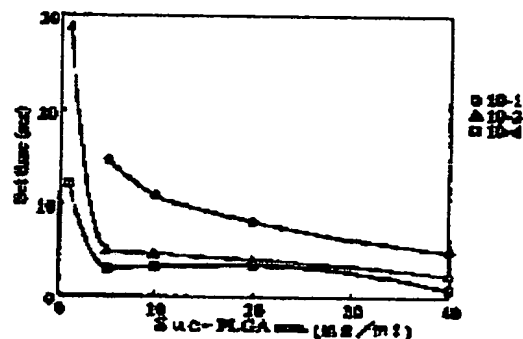
(72)Inventor : MATSUDA SHIYOUJIROU
IKADA YOSHITO
IWATA HIROO

54) MEDICAL MATERIAL AND ITS PRODUCTION

57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a less toxic crosslinking method and a medical material formed by this method.

SOLUTION: This medical material is formed by crosslinking gelatin by succinimidized poly-L-glutamic acid. This process for producing the medical material comprises mixing an aq. soln. contg. the gelatin and an aq. contg. the succinimidized poly-L-glutamic acid and crosslinking the gelatin and the succinimidized poly-L-glutamic acid. The material is a medical material, such as vital adhesive, hemostatic material, embolus material for blood vessel and sealant of aneurysm which is used by direct crosslinking on medical treatment site. The medical material is used by applying the gelatinized gelatin after the crosslinking to either of an adhesion preventive material or drum carrier.



LEGAL STATUS

Date of request for examination]

05.08.2002

Date of sending the examiner's decision of rejection]

Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

Date of final disposal for application]

Patent number]

Date of registration]

R2

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-103479

(43) 公開日 平成9年(1997)4月22日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 L 25/00			A 6 1 L 25/00	A
A 6 1 K 47/42			A 6 1 K 47/42	B
A 6 1 L 27/00			A 6 1 L 27/00	V

審査請求 未請求 請求項の数4 書面 (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平7-301898
(22) 出願日 平成7年(1995)10月13日

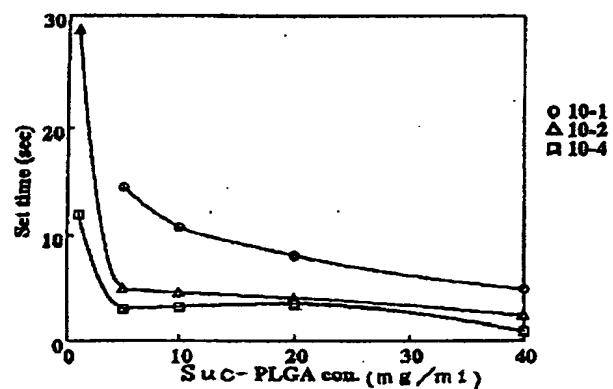
(71) 出願人 000001339
グンゼ株式会社
京都府綾部市青野町膳所1番地
(72) 発明者 松田 晶二郎
京都府綾部市井倉新町石風呂1番地 グン
ゼ株式会社京都研究所内
(72) 発明者 筏 義人
京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2番地182
(72) 発明者 岩田 博夫
大阪府三島郡島本町若山台1丁目5番8-
203

(54) 【発明の名称】 医用材料及びその製造法

(57) 【要約】

【課題】 毒性の少ない架橋法、及び、これによる医用材料を提供するものである。

【解決手段】 ゼラチンをスクシンイミド化ポリ-L-グルタミン酸により架橋して成る医用材料。ゼラチンを含む水溶液とスクシンイミド化ポリ-L-グルタミン酸を含む水溶液を混合し、ゼラチンとポリ-L-グルタミン酸とを架橋させることを特徴とする医用材料の製造法。生体接着剤、止血材、血管塞栓材、動脈瘤の封止材等、医療現場で直接架橋させて用いる医用材料。架橋後のゲル化ゼラチンを癒着防止材、薬物担体のいずれかに適用させた医用材料の提供に関する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】ゼラチンをスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸により架橋して成る医用材料。

【請求項 2】ゼラチンを含む水溶液とスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸を含む水溶液を混合し、ゼラチンとポリーレーグルタミン酸とを架橋させることを特徴とする医用材料の製造法。

【請求項 3】生体接着剤、止血材、血管塞栓材、動脈瘤の封止材のいずれかに適用される請求項 1 記載の医用材料。

【請求項 4】癒着防止材、薬物担体のいずれかに適用される請求項 1 記載の医用材料。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

【発明の属する技術分野】本発明は、特に医療用材料として適用されるゼラチンゲル及びその製造法の提供に関する。

【0002】

【従来の技術】ゼラチンは生体に含まれるコラーゲンから得られるタンパク質として知られ、安全性に優れ、また、生体内で分解、消失する特性を活かし、医療分野ではカプセル剤をはじめとして多岐に応用されている。また、かかるゼラチンをゲル化し、生体に対する接着剤、止血剤等として用いる試みもなされている。例えば、術時に患部にゼラチン水溶液とホルムアルデヒド、レゾルシノールを加え、生体上でゼラチンをゲル化させて接着剤として用いる方法がフランス E. H. S 社のキット（商品名：GRF glue）として臨床に利用され、また、同様に患部上でゼラチンとポリーレーグルタミン酸をカルボジイミドで架橋してハイドロゲルを作成し、同用途に適用することも試みられている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】ゼラチンは水溶性高分子であるため、水中では一定の形態を保つことができず、従って、前記したようにホルムアルデヒドやレゾルシノールで架橋したり、ゼラチンとポリーレーグルタミン酸をカルボジイミドで架橋してハイドロゲルを作成することが試みられているのであるが、これらの架橋剤には毒性の問題があり、特に、患部上で直接架橋させる前記のような接着剤、止血材等の用途においてはこれらの架橋剤が周囲の組織を障害しないよう細心の注意を払う必要がある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は、かかる点、毒性の少ない架橋法、及びこれによる医用材料を提供するもので、ゼラチンをスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸により架橋して成る医用材料。ゼラチンを含む水溶液とスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸を含む水溶液を混合し、ゼラチンとポリーレーグルタミン酸とを架橋させることを特徴とする医用材料の製造法。生体

接着剤、止血材、血管塞栓材、動脈瘤の封止材等、医療現場で直接架橋させて用いる医用材料。架橋後のゲル化ゼラチンを癒着防止材、薬物担体のいずれかに適用させた医用材料の提供に関する。即ち、本発明は予めグルタミン酸に活性基を導入し、これをゼラチン水溶液と混合することによってゼラチンのゲル化が可能であることを見だし、かかる方法により毒性の高い架橋剤を直接生体に触れさせることなしにこれを可能としたものである。以下、本発明を詳細に説明する。

【発明の実施の形態】

【0005】本発明におけるゼラチンとは生体に含まれるヒト、牛、豚等の骨、あるいは皮膚等から得たものが使用でき、その製法としてはコラーゲンを酸、アルカリ、酵素等により適宜処理して得たものが用いられる。本発明におけるスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸は、人体に対し無害であり、反応基（ $-COOH$ 基）を多数有するため迅速な反応が可能であるポリーレーグルタミン酸のカルボキシル基にカルボジイミドの併用下に細胞毒性の低い n -ヒドロキシスクシンイミド、若しくは、 n -ヒドロキシルホスクシンイミドナトリウム塩を反応させ、活性エステルを導入したものである。かかる反応物は、ポリーレーグルタミン酸 0.1～20 重量%に対し、 n -ヒドロキシスクシンイミド、若しくは、 n -ヒドロキシルホスクシンイミドナトリウム塩を 0.001～10 重量%、カルボジイミドを 0.001～20 重量%の割合で用い、反応温度 0～189℃、反応時間 1～50 時間の適宜の条件を選択して得られる。尚、カルボジイミドとしては、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド・塩酸塩、1-シクロヘキシル-3-（2-モルホリノエチル）カルボジイミド・メト- p -トルエンスルホン酸塩、ジシクロヘキシルカルボジイミドを用いることができる。

【0006】上記のスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸とゼラチンとのゲル化反応は、ゼラチン 1～50 重量%に対し、スクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸 0.1～10 重量%加え、好ましくは、30～50℃で反応させる。反応に要する時間は、両者を混合してから 2 秒～10 分程度であるが、通常 3～60 秒という極めて短時間の内に反応してゲル化するのでこの程度の時間があれば良い。尚、両者の配合に際しては、均一なゲルを得やすいことから双方適宜濃度の溶液として混合するのが好ましい。尚、かかる溶液を作製するための溶媒としては、蒸留水のほか、生理食塩水、炭酸水素ナトリウム、ホウ酸、リン酸等の緩衝液等、毒性のないものを用いることができる。

【0007】以上のようにゲル化されるゼラチンはゲル化を直接患部で行いこれによる作用を発現させる、例えば、生体接着剤、止血材、血管塞栓材、動脈瘤の封止材のいずれかに適用し、或は、一旦ゲル化させた後用いる癒着防止材、薬物担体として好適に用られる。尚、かか

るゲルは当該用途に適用後は生体内で分解し、一定期間経過すると吸収、消失する特性があり、体内に異物として残存することがない。以下、本発明について実施例を挙げて詳細に説明する。

【0008】（実施例1）

ーポリーレーグルタミン酸のスクシンイミド化の実施例ー

表1の割合でポリーレーグルタミン酸（PLGA）、 n -ヒドロキシスクシンイミド（HSI）、及び、1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド塩酸塩（EDC）を混合し、10mlのジメチルスルフォキシド（DMSO）に溶かして、室温で振とうしつつ20時間反応を行った。反応後、未反応のEDC、

HSIおよびEDCの反応後生成物である1-エチル-3-（3-ジメチルアミノプロピル）ウレア（EDC-Urea）を除去するためにアセトンに再沈させ、更に2回アセトンで、2回ヘキサンで洗浄した後、真空乾燥し、活性基の導入量の異なる本発明にかかわる3種のスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸（Suc-PLGA）を得た。なお、ポリーレーグルタミン酸（PLGA）は、味の素（株）製の商品名（Ajicoat polyamino acid resin SPG）を塩酸で透析し、ポリーレーグルタミン酸としたものを用いた。

【0009】

【表1】

試 験 No	PLGA		HSI		EDC		モル比 (PLGA :HSI)	回収 量 (g)
	(g)	(mol)	(g)	(mol)	(g)	(mol)		
1	0.5	3.876×10^{-3}	0.0446	3.876×10^{-4}	0.0742	3.876×10^{-4}	10:1	0.47
2	0.5	3.876×10^{-3}	0.0891	7.752×10^{-4}	0.1485	7.752×10^{-4}	10:2	0.46
3	0.5	3.876×10^{-3}	0.1783	1.550×10^{-3}	0.2969	1.550×10^{-3}	10:4	0.48

【0010】（実施例2）

ー毒性試験ー

実施例1で用いたHSI、EDC、反応後生成物であるEDC-Ureaの細胞毒性試験をL929細胞を用いて色素排除法にて行った。その結果を図1に示したがEDCに対しHSI、EDC-Ureaは極めて毒性が低いことを示している。尚、本発明においてはEDCは実施例1のように洗浄除去されるので実用上問題を生じない。

【0011】（図1）

【0012】（実施例3）

ーゼラチンのゲル化架橋反応の実施例ー

等電点が8.9の新田ゼラチン（株）製ゼラチン（Type G-0545P、牛骨由来酸処理ゼラチン）を20重量%になるように7%NaHCO₃水溶液に溶解させ、ゼラチンを含む水溶液とした。これを直径16mmの試験管に500 μ l採取し、37℃の恒温水槽に漬け、1cmのスターラーチップで一定速度で攪拌した。

そこへ各種濃度に7%NaHCO₃水溶液で調製したSuc-PLGA水溶液を最終添加濃度（純分換算）で1, 5, 10, 20, 40mg/mlとなるよう加えた。そしてSuc-PLGA水溶液を加えてからゼラチンがゲル化してスターラーチップが止まるまでの時間を測定し、その結果を図2に示した。

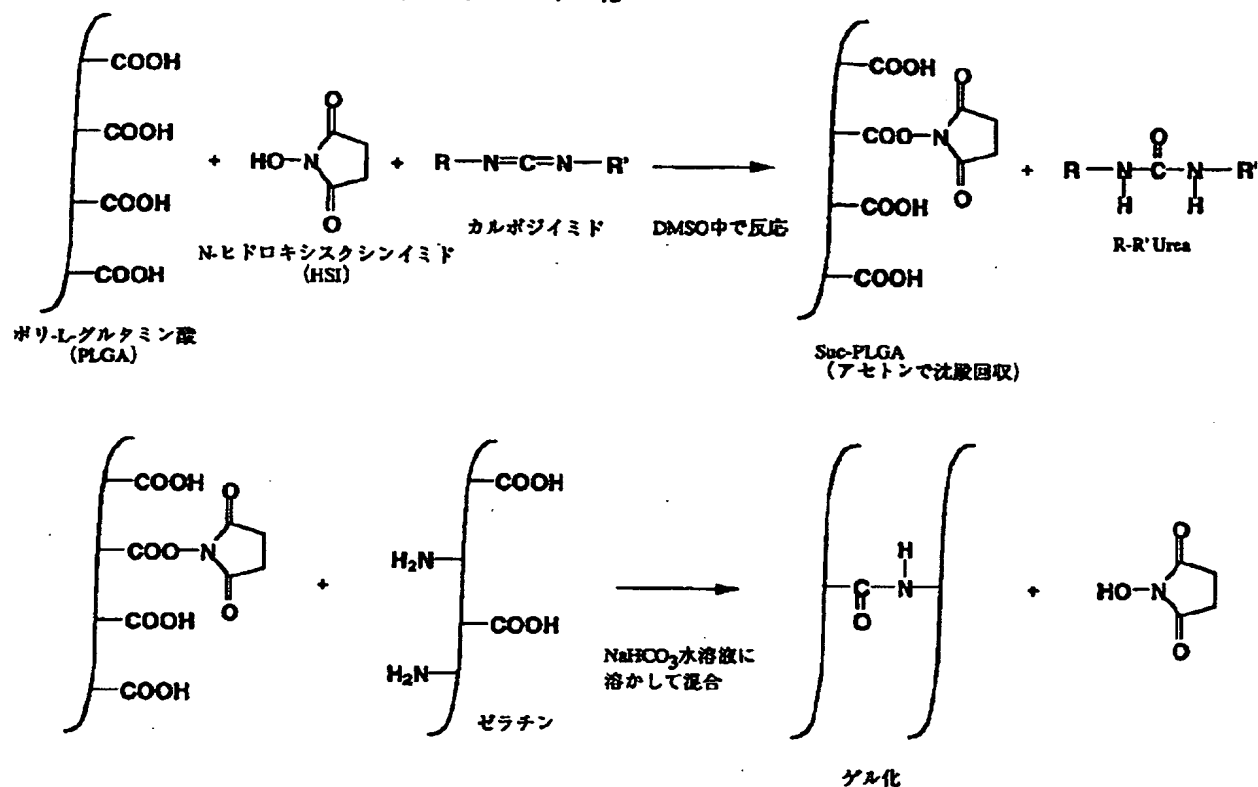
【0013】（図2）

【0014】かかる結果はSuc-PLGAの導入活性基量が多いほど、また、混合液中のSuc-PLGAの濃度が高いほどゲル化時間が短くなる傾向を示し、これの調整によりゲル化時間のコントロールが可能であることを示唆する。しかしながら使用濃度がある一定以上であるとそれに要する時間はほぼコンスタントである。尚、実施例1におけるスクシンイミド化ポリーレーグルタミン酸の製造、及び、実施例3におけるゼラチンとの反応を化学式として化1に示した。

【0015】

【化1】

HSIによるPLGAの活性化反応を利用したゼラチンのゲル化



【0016】(実施例4)

—Suc-PLGAの保存安定性試験—

実施例1で得たSuc-PLGAの粉末を作成後90日間シリカゲルを入れた容器に入れ、冷蔵庫内で保存しておいたものを用い、実施例3に準じてゲル化実験を行った結果を図3に示した。この結果、図2とほとんど同じ曲線が得られ、この方法でSuc-PLGAは安定して保存できることがわかった。

【0017】(図3)

【0018】(実施例4)

—実用試験例—

本発明にかかわるゼラチンゲルの応用例として、フィブリン糊のような止血剤が考えられる。そこで兎を用いた *in vivo* 実験を行った。実験は血管が比較的均一に網目状に存在している脾臓を用いて行った。体重5kgの日本種白色兎(オス)をネブタール静脈注射、ケタラル、筋肉弛緩剤の筋肉注射により麻酔させる。次いで電気メスを用いて開腹し、脾臓を露出させ、18Gの注射針を0.6mmの深さまで突き刺して出血創を作成する。その後1分間の出血をろ紙で採取する。作創後1分後に出血部位で以下の方法によりゼラチンをゲル化させる。用いたゼラチンは実施例3と同じものであり、Suc-PLGAはSuc基の導入が10:4の実施例1により得たものを用いた。20%ゼラチン水溶液(7%NaHCO₃)50μlを創部に滴下後、ただちに20mg/mlのSuc-PLGA水溶液(7%NaHCO₃)50μl(即ち、最終濃度10mg/ml)に相

PLGAの7%NaHCO₃への溶解は作創と同時にを行ったので溶解後1分後にゲル化したことになる。このようなゲル化の後、1分おきに前記と同じように出血を採取し、シアンメトヘモグロビン法を用いて出血量の定量を行った。その結果を図4に示す。これにおいて、創部からの出血はほぼ完全に抑えられたことが、ゼラチンゲルを創部に用いないコントロールとの比較において明らかである。

【0019】(図4)

【0020】尚、図4においてヨコ軸は経過時間、タテ軸は吸光度の相対値(累積値)を表す。ろ紙に採取した血液をシアンメトヘモグロビン法により定量する。即ち、血液を吸い取ったろ紙を0.75%NH₄Cl in 17mM Tris-HCl buffer (pH=7.6)に漬け、37℃で24時間振とうし、血液を抽出する。抽出液20μlに対し、0.78mMシアン化カリウム、0.61mMフェリシアン化カリウム液を5ml加える。これの540nmの吸光度を測定する。ゲル添加前の1分間の血液量を示す吸光度を1とし、その後の出血量を相対値で示した。ゲルを添加しない場合、出血は持続するがゲルを添加することによって出血が抑制される。

【0021】

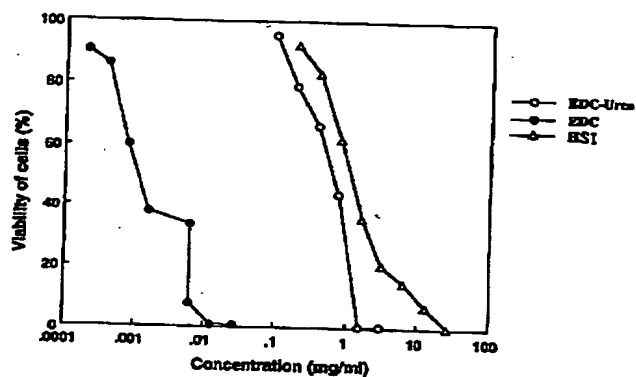
【発明の効果】本発明は、毒性の少ない架橋法、及びこれによる医用材料を提供したもので、生体接着剤、止血材、血管塞栓材、動脈瘤の封止材等、医療現場で直接架橋させて用いる医用材料に用いて従来のようにその適用

極めて簡単である。一方、架橋させたゲル化ゼラチンは他の用途として癒着防止材、徐放性薬物の担体としても好適に用いることができる。

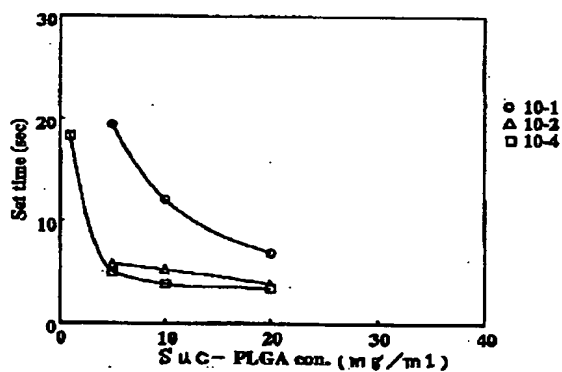
【図面の簡単な説明】

【図 1】 Suc-PLGA の合成に関係する 3 つの化合物の細胞毒性試験の結果を示した図。

【図 1】



【図 3】

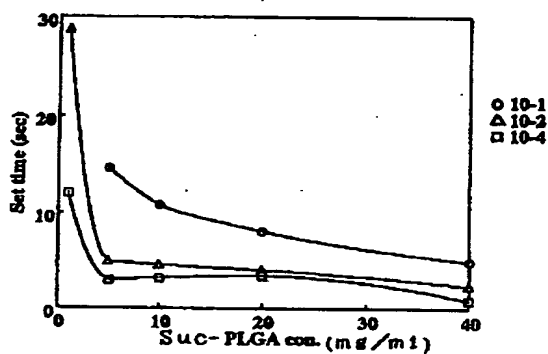


【図 2】 Suc-PLGA の種類と濃度がゲル化時間に与える影響を示した図。

【図 3】 作成後 90 日保存した後の Suc-PLGA の水溶液濃度とゲル化時間の関係を示した図。

【図 4】 出血創に本発明ゲルを適用したときの出血量の変化を示した図。

【図 2】



【図 4】

